



12

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07C 229/16, 235/06, A61K 31/195, 7/48		(11) Numéro de publication internationale: WO 99/12891
A1		(43) Date de publication internationale: 18 mars 1999 (18.03.99)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/01877</p> <p>(22) Date de dépôt international: 1er septembre 1998 (01.09.98)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 97/111174 9 septembre 1997 (09.09.97) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): L'OREAL [FR/FR]; 14, rue Royale, F-75008 Paris (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): GALEY, Jean-Baptiste [FR/FR]; 12, rue Charles Dordain, F-93600 Aulnay (FR). DUMATS, Jacqueline [FR/FR]; 13, rue Ambroise Croizat, F-93420 Villepinte (FR).</p> <p>(74) Mandataire: DODIN, Catherine; L'Oréal - DPI, 6, rue Bertrand Sincholle, F-92585 Clichy Cedex (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>
<p>(54) Title: NOVEL DIAMINE ALKYLENE DIACETIC OR TRIACETIC ACID DERIVATIVES, PREPARATION METHOD, USE IN COSMETIC AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND COMPOSITIONS CONTAINING THEM</p> <p>(54) Titre: NOUVEAUX COMPOSES DERIVES D'ACIDE ALKYLENE DIAMINE DI- OU TRI-ACETIQUE, LEUR PROCEDE DE PREPARATION, LEUR UTILISATION DANS DES COMPOSITIONS COSMETIQUES ET PHARMACEUTIQUES, ET COMPOSITIONS LES COMPRENANT</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns novel compounds such as esters derived from diamine alkylene diacetic or triacetic acid, and the method for preparing them. The invention also concerns the use of said compounds in cosmetic or pharmaceutical compositions in particular for protecting the organism against oxidant stress.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>La présente invention a pour objet de nouveaux composés de type esters dérivés d'acide alkylène diamine di- ou tri-acétique, ainsi que leur procédé de préparation. L'invention concerne également l'utilisation de ces composés dans des compositions cosmétiques et pharmaceutiques en particulier pour protéger l'organisme contre le stress oxydant.</p>		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

Nouveaux composés dérivés d'acide alkylène diamine di- ou tri-acétique, leur procédé de préparation, leur utilisation dans des compositions cosmétiques et pharmaceutiques, et compositions les comprenant

- 5 La présente invention a pour objet de nouveaux composés de type esters dérivés d'acide alkylène diamine di- ou tri-acétique, et notamment leur utilisation dans des compositions cosmétiques et pharmaceutiques en particulier pour protéger l'organisme contre le stress oxydant.
- Le stress oxydant caractérise un certain nombre de situations physiologiques et
- 10 physiopathologiques au cours desquelles existe un déséquilibre de la balance antioxydant/prooxydant. Ce déséquilibre se traduit essentiellement par des processus oxydatifs non contrôlés au sein des tissus vivants mettant en jeu des radicaux libres oxygénés et conduisant à la formation de dégâts oxydatifs sur les molécules et macromolécules biologiques.
- 15 Un certain nombre de situations physiopathologiques provoquent, favorisent, accompagnent et/ou sont la conséquence directe d'un stress oxydant. Il s'agit notamment de l'inflammation, du vieillissement, des maladies neurodégénératives, de l'exposition aux UV et aux rayonnements ionisants, de la carcinogenèse, de la toxicité et/ou du mode d'action de certains médicaments.
- 20 On sait qu'au cours d'un stress oxydant, du fer est libéré de ses sites de stockage normaux comme la ferritine et devient alors accessible pour participer à certaines réactions, et notamment aux réactions de Fenton et Haber-Weiss, permettant ainsi la formation de radicaux hydroxyles, ceux-ci étant connus pour être responsables de nombreux dommages oxydatifs.
- 25 On a, depuis longtemps, recherché des composés, notamment de synthèse, permettant de protéger l'organisme contre le stress oxydant.
- Ces composés peuvent être regroupés dans les principales classes suivantes :
- les antilipoperoxydants, tels que la vitamine E, le trolox, le butylhydroxytoluène,
 - les réducteurs biologiques, comme le glutathion réduit et ses dérivés, la vitami-

30 mine C et ses dérivés,

 - les désactivateurs d'oxygène singulet (quenchers), comme le β -carotène,
 - les systèmes capables de décomposer le peroxyde d'hydrogène et, en particulier, des enzymes telles la catalase ou des peroxydases en présence de leurs co-substrats,

35 - les systèmes de protection contre l'anion superoxyde, comme la superoxyde dismutase (SOD) ou des SOD-like tels que le complexe Mn-desferal ou le diisopropyl salicylate de cuivre,

 - les systèmes capables de décomposer les hydroperoxydes organiques comme la glutathion peroxydase ou des systèmes modèles à base de sélénium,

40 - les chelateurs du fer comme le desferal ou certaines hydroxypyridinones.

Toutefois, il s'est avéré qu'aucun des chelateurs du fer connus n'était réellement satisfaisant en vue de protéger l'organisme vis-à-vis des radicaux hydroxyles. La

plupart de ces composés protecteurs présentent une toxicité du fait des interférences avec le métabolisme normal du fer, ce qui en limite l'utilisation.

La demande de brevet WO-94/11338 décrit de nouveaux chelateurs du fer efficaces contre le stress oxydant. Ces composés, susceptibles de former des complexes avec le fer, ont des constantes de stabilité faibles, ce qui diminue par conséquent les risques de toxicité associés à leur utilisation.

L'action de ces composés repose sur un nouveau concept, celui des chelateurs du fer activables en situation de stress oxydant.

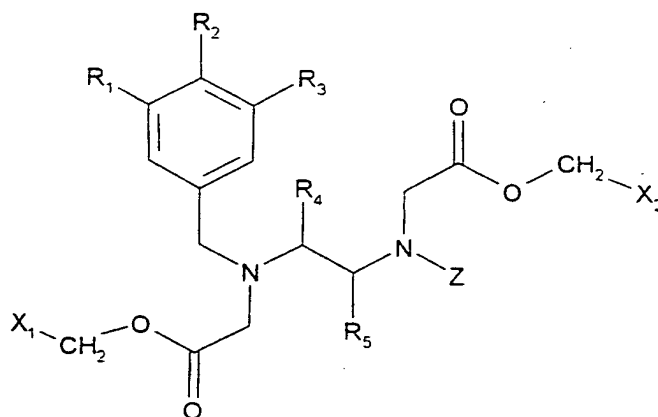
L'intérêt de ces composés est notamment de limiter les effets secondaires potentiels. En effet, en situation normale, ces composés possèdent une affinité pour le fer suffisamment faible pour ne pas déplacer le fer des protéines de transport comme la transferrine, à l'inverse de certains autres chelateurs puissants tels que le desféral ou l'HBED qui ont des constantes de stabilité élevées (supérieures à 10^{30}). En situation de stress oxydant, ces composés sont oxydés de manière spécifique par H_2O_2 , en espèces possédant une forte affinité pour le fer et empêchant sa participation à la formation de HO^\bullet , d'où le terme "d'activation en situation de stress oxydant".

Un certain nombre d'expériences *in vitro* ont confirmé l'intérêt de ces composés en tant que protecteurs vis à vis de l'induction de dommages oxydatifs catalysés par le fer sur les différentes classes de molécules biologiques.

Toutefois, l'effet protecteur de ces composés de l'art antérieur sur des cellules en culture reste relativement modéré car leur biodisponibilité reste faible même lorsque les composés se présentent sous forme d'esters d'alkyle.

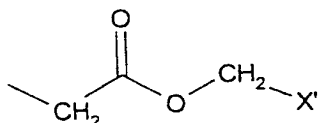
La présente invention a pour but de résoudre ce problème en proposant de nouveaux composés qui sont efficaces contre le stress oxydant et qui confèrent une protection beaucoup efficace contre la toxicité de H_2O_2 sur des cellules en culture.

L'invention a donc pour objet un composé de formule (I) :

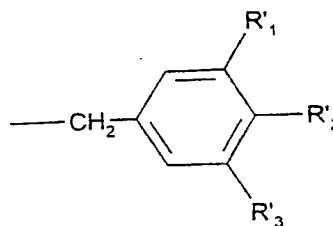


dans laquelle:

- R_1 , R_2 et R_3 sont, indépendamment les uns des autres, choisis parmi H, OH ou un radical alcoxy, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8
- 5 - R_4 et R_5 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R_4 et R_5 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons
- 10 - X_1 et X_2 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi :
 - un groupement $-(CO)NR_6R_7$ dans lequel R_6 et R_7 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R_6 et R_7 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons, ou
 - un groupement $-O(CO)R_8$ dans laquelle R_8 est choisi parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8
- 15 - Z est choisi parmi un groupement de formule A ou un groupement de formule B



(II)



(III)

dans lesquels :

- R'_1 , R'_2 et R'_3 sont, indépendamment les uns des autres, choisis parmi H, OH ou un radical alcoxy, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8
- 20 - X' est soit un groupement $-(CO)NR'_4R'_5$ dans lequel R'_4 et R'_5 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R'_4 et R'_5 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons; soit un groupement $-O(CO)R'_6$ dans laquelle R'_6 est choisi parmi H ou un radical alkyle,
- 25 linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8

ainsi que leurs sels organiques ou minéraux.

- 30 L'invention a également pour objet un procédé de préparation des composés ci-dessus dans lequel on fait réagir un sel, par exemple un sel de sodium ou un chlorhydrate, d'un dérivé d'acide N,N'-dibenzyl alkylènediamine N,N'-diacétique ou d'acide N-benzyl alkylènediamine N,N',N'-triacétique, avec 2 à 4 équivalents d'un dérivé halogénométhyle substitué.

L'invention a également pour objet une composition cosmétique ou pharmaceutique, comprenant dans un véhicule cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable au moins un composé de formule (I) ci-dessus.

5 Un autre objet de l'invention est l'utilisation des composés de formule (I) en tant qu'agent antioxydant.

Un autre objet de l'invention est l'utilisation des composés de formule (I) dans une composition cosmétique, pour traiter le stress oxydant et/ou pour traiter les effets de l'exposition au soleil et/ou pour prévenir le vieillissement notamment de la
10 peau ou des cheveux.

Un autre objet de l'invention est l'utilisation des composés de formule (I) pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à traiter le stress oxydant notamment lié à certains états pathologiques, et/ou destinée à traiter des situations pathologiques telles que les cancers, les états inflammatoires, l'ischémie
15 reperfusion, les surcharges en fer, les maladies dégénératives du système nerveux, et/ou destinée à traiter les effets de l'exposition aux rayonnements ionisants ou solaires, et/ou destinée à traiter les effets de l'utilisation de certains médicaments générateurs de radicaux libres, et/ou destinée à prévenir le vieillissement notamment de la peau ou des cheveux.

20 On a donc constaté que les composés de l'invention exercent un effet protecteur à des concentrations faibles, de l'ordre de quelques micromoles par litre, alors que les composés de l'art antérieur proche, tel que WO 94/11338, n'exercent d'effet qu'à des concentrations bien supérieures, de l'ordre de la millimole par litre.
25

Les composés selon l'invention sont donc beaucoup plus efficaces que ceux de l'art antérieur vis à vis de la protection de cellules en culture contre la toxicité de H_2O_2 .

30 Les composés selon l'invention sont donc des esters de dérivés d'acide N,N'-dibenzyl alkylènediamine N,N'-diacétique ou d'acide N-benzyl alkylènediamine N,N',N'-triacétique.

Ils répondent à la formule générale (I) ci-dessus.

35 De préférence, les radicaux alcoxy sont choisis, indépendamment les uns des autres, parmi les radicaux méthoxy, éthoxy, n-propyloxy, isopropyloxy, n-butyloxy, sec-butyloxy ou tert-butyloxy.

Les radicaux alkyles sont de préférence choisis, indépendamment les uns des autres, parmi les radicaux méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, sec-butyle ou tert-butyle. Lorsqu'ils forment un cycle, ledit cycle est de préférence un
40 cyclohexyle.

Les composés selon l'invention peuvent aussi se présenter sous forme de sels d'acide minéral ou organique.

Parmi les sels minéraux, on peut citer les sulfates, les chlorhydrates, les nitrates, les phosphates ou les bromates.

- 5 Parmi les sels organiques, on peut citer les fumarates, les mésylates, les tosylates.

Parmi les composés préférés selon l'invention, on peut notamment citer:

- 10 - le bis acétoxyméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]éthylènediamine-N,N'-diacétate,
- le bis pivaloyloxyméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]éthylènediamine-N,N'-diacétate, et
- le bis N,N-diéthylaminocarbonylméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]-éthylènediamine-N,N'-diacétate,
- 15 ainsi que leurs sels, notamment leurs chlorhydrates.

Les composés selon l'invention peuvent être préparés par l'homme du métier sur la base de ses connaissances générales, selon les modes de synthèse conventionnels.

- 20 Ce procédé de préparation peut notamment consister à faire réagir un sel, par exemple un sel de sodium ou un chlorhydrate, d'un dérivé d'acide N,N'-dibenzyl alkylènediamine N,N'-diacétique ou d'acide N-benzyl alkylènediamine N,N',N'-triacétique, avec 2 à 4 équivalents d'un dérivé halogénométhyle substitué.

- 25 Parmi les dérivés halogénométhyle substitués, on peut citer à titre d'exemple l'acétate de bromométhyle ou le pivalate de chlorométhyle.

La réaction peut avoir lieu dans le DMF à une température de 35-60°C, de préférence 40-50°C, pendant 20-30 heures, de préférence 22-26 heures.

On peut ensuite purifier le produit obtenu, par exemple par chromatographie sur colonne de silice.

30

Les composés selon l'invention peuvent être utilisés comme substances actives pour se protéger des effets néfastes des radicaux libres, c'est à dire contre le stress oxydant et notamment pour traiter des situations pathologiques en médecine humaine ou vétérinaire telles que les cancers, les états inflammatoires, l'ischémie reperfusion, les surcharges en fer, les maladies dégénératives du système nerveux, ou pour traiter les effets de l'exposition aux rayonnements ionisants ou solaires, ou encore pour traiter les effets de l'utilisation de certains médicaments connus pour générer des radicaux libres, et notamment des anticancéreux comme l'adriamycine.

- 40 Ces composés peuvent aussi être utilisés dans des situations non pathologiques telles que l'exposition au soleil ou le vieillissement pour protéger notamment la peau ou les cheveux.

Les compositions, notamment cosmétiques ou pharmaceutiques, comprenant un ou plusieurs composés selon l'invention peuvent se présenter sous diverses formes conventionnelles telles que sous forme d'onguent, de crème, de pommade, de gel, de spray, de lotion, d'émulsion ou de dispersion vésiculaire.

- 5 Le composé de formule (I) peut être présent en une quantité de 0,001 à 10 % en poids par rapport au poids total de la composition, de préférence à raison de 0,01 à 8% en poids, préférentiellement de 0,1 à 5% en poids.

Lorsque la composition est une composition pharmaceutique, elle peut être administrée sous toutes les formes d'administration usuelles, telles que par voie orale, 10 topique ou parentérale, le support pharmaceutiquement acceptable étant fonction de la forme d'administration choisie.

La forme galénique ainsi que la quantité de composé présent dans la composition peuvent être aisément déterminées par l'homme du métier sur la base de ses connaissances générales.

- 15 Dans les compositions selon l'invention, le composé de formule (I) peut être associé à au moins une autre substance active, notamment une substance anti-radicaux libres).

Ces substances peuvent être choisies parmi :

- 20 - les antilipoperoxydants, tels que la vitamine E, le trolox, le butylhydroxytoluène,
- les réducteurs biologiques, comme le glutathion réduit et ses dérivés, la vitamine C et ses dérivés,
- les désactivateurs d'oxygène singulet (quenchers), comme le β -carotène,
- les systèmes capables de décomposer le peroxyde d'hydrogène et, en particulier, 25 des enzymes telles la catalase ou des peroxydases en présence de leurs co-substrats,
- les systèmes de protection contre l'anion superoxyde, comme la superoxyde dismutase (SOD) ou des SOD-like tels que le complexe Mn-desferal ou le diisopropyl salicylate de cuivre,
30 - les systèmes capables de décomposer les hydroperoxydes organiques comme la glutathion peroxydase ou des systèmes modèles à base de sélénium,
- les chelateurs du fer comme le desferal ou certaines hydroxypyridinones.

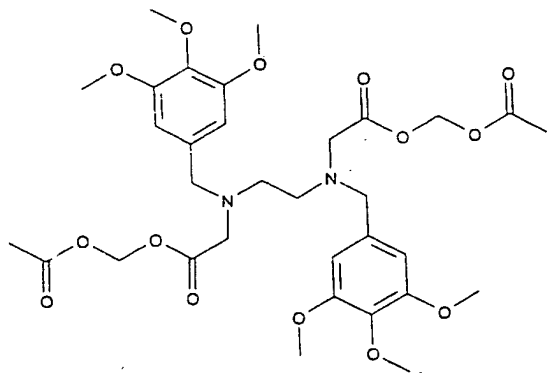
Le composé selon l'invention peut également être associé à des anti-inflammatoires, des filtres UV et/ou des promoteurs de pénétration.

- 35 Le composé de formule (I) et la substance active peuvent être associés au sein de la même composition ou être appliqués séparément.

- 40 Les exemples ci-après sont donnés en vue d'illustrer la préparation de certains composés de formule (I) et certaines de leurs utilisations dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques.

Exemple de synthèse 1 : bis acétoxyméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]-
ethylenediamine-N,N'-diacétate de formule :

5



10

On solubilise 2 g (3,3 mmoles) de dichlorhydrate de l'acide N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacétique dans 20 ml d'eau par addition de lessive de soude. Le pH est amené à 8 par addition d'acide chlorhydrique concentré. La solution est évaporée à sec, puis le résidu est repris dans 30 ml de diméthyle formamide.

15

On ajoute 1,3 g de bromométhyle acétate ($\text{BrCH}_2\text{OCOCH}_3$; 8,5 mmoles) et le milieu est agité à 45°C pendant 24h. Le mélange est alors évaporé à sec puis repris par du dichlorométhane, lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium, filtré et évaporé à sec.

20

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle / heptane 3:1).

On obtient une huile qu'on purifie par cristallisation dans un mélange dichlorométhane / pentane.

On obtient après filtration et séchage, 650 mg d'un solide blanc (rendement : 30%).

25

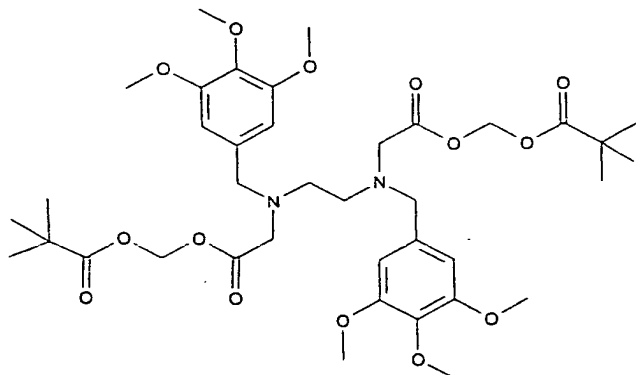
Spectre RMN : ^1H et ^{13}C (400 MHz) dans CDCl_3 : conforme à la structure attendue

Analyse élémentaire :

	C	H	N	O
% calculé	56,46	6,52	4,12	32,91
% trouvé	56,24	6,51	4,18	32,66

Exemple de synthèse 2 : bis pivaloyloxymethyl-[N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl)]ethylenediamine-N,N'-diacetate de formule :

5



On solubilise 2 g (3,3 mmoles) de dichlorhydrate de l'acide N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacétique dans 20 ml d'eau par addition de lessive de soude. Le pH est amené à 8 par addition d'acide chlorhydrique concentré. La solution est évaporée à sec, puis le résidu est repris dans 30 ml de diméthyle formamide.

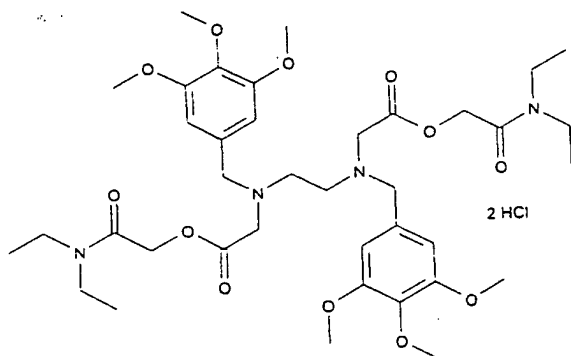
On ajoute 1,5 g de chlorométhyle pivalate (ClCH₂OCOtBu; 10 mmoles) et le milieu est agité à 45°C pendant 24 h. Le mélange est alors évaporé à sec puis repris par du dichlorométhane, lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium, filtré et évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant dichlorométhane / méthanol 99:1).

On obtient 500 mg d'une huile incolore (rendement : 20%).

Spectre RMN : ¹H (400 MHz) dans CDCl₃ : conforme à la structure attendue

Exemple de synthèse 3 : bis N,N-diéthylaminocarbonylmethyl-[N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl)]ethylenediamine-N,N'-diacetate dichlorhydrate de formule :

25



On solubilise 2 g (3,3 mmoles) de dichlorhydrate de l'acide N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacétique dans 20 ml d'eau par addition
 5 de lessive de soude. Le pH est amené à 8 par addition d'acide chlorhydrique concentré. La solution est évaporée à sec, puis le résidu est repris dans 30 ml de diméthyle formamide.

On ajoute 1,0 g de 2-chloro N,N-diéthylacétamide ($\text{ClCH}_2\text{CONEt}_2$; 6.6 mmoles) et
 10 0,1 g d'iodure de méthyle puis le milieu est agité à 45°C pendant 24 h. Le mélange est alors évaporé à sec puis repris par du dichlorométhane, lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium, filtré et évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle).

L'huile obtenue est reprise dans l'éthanol. Par addition d'acide chlorhydrique concentré, un précipité blanc apparaît. Celui ci est filtré, lavé à l'éther et séché sous
 15 vide.

On obtient 650 mg d'un solide blanc (rendement : 25%).

Spectre RMN : ^1H (400 MHz) dans CDCl_3 : conforme à la structure attendue

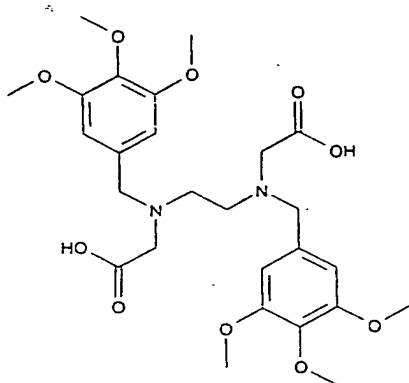
20

Exemple 4 : mise en évidence de l'activité des composés

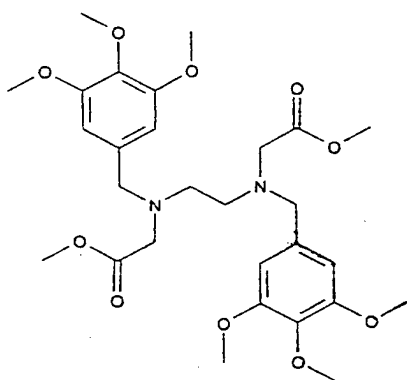
L'activité des composés a été évaluée par leur capacité à protéger des cellules
 25 V79 contre la toxicité de H_2O_2 , technique classiquement utilisée pour évaluer l'efficacité d'antioxydants ou de chélateurs de fer.

On a comparé l'activité du composé de l'exemple 1 avec celle de deux composés de l'art antérieur, décrits dans WO94/11338 :

30 - comparatif 1 : le dichlorhydrate de l'acide N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacétique de formule :



- comparatif 2 : son ester méthylique de formule



5

a/ protocole expérimental

- 10 Des cellules V79 ont été repiquées dans le milieu DMEM (Dulbecco Modified Essential Medium) supplémenté par 10% de sérum de veau fœtal, streptomycine, pénicilline et glutamine à 37°C sous une atmosphère de 95% air + 5% CO₂. Les cellules ont ensuite étéensemencées à une densité de 5.10³/ml dans des plaques à 96 puits.
- 15 Après 24 heures, les cellules ont été rincées, puis incubées avec les composés à tester à différentes concentrations. Après 1 heure de contact, 30 µM de H₂O₂ ont été ajoutés et incubés à 37°C pendant encore 1heure.
- 20 Les cellules ont ensuite été rincées, puis remises en contact avec le milieu supplémenté ci-dessus décrit. Après 72 heures, le nombre de cellules a été évalué dans chaque puits en utilisant la technique du rouge neutre. L'effet protecteur est évalué par l'IC₅₀, qui mesure la concentration induisant 50% de protection contre la cytotoxicité comparativement aux puits traités par H₂O₂ seul.
- 25

b/ résultats

On a obtenu les résultats suivants :

5

Composé	Résultat (concentration induisant 50% de protection)
composé de l'exemple 1	10 μ M
comparatif 1	25% de protection uniquement à 10 mM
comparatif 2	supérieur à 1 mM (composé insoluble au-delà)

On constate donc que le composé selon l'invention exerce un effet protecteur beaucoup plus marqué que ceux des deux composés de l'art antérieur.

10

Exemple 5

On prépare une composition cosmétique se présentant sous la forme d'une émulsion, en utilisant les constituants ci dessous (% en poids) :

composé de l'exemple 1	0,1%
PEG 50 oxyéthylène	3%
20 mono diglyceril stéarate	3%
huile de vaseline	24%
alcool cétylique	5%
eau	qsp 100%

25 Exemple 6

On prépare une composition cosmétique se présentant sous la forme d'une émulsion, en utilisant les constituants ci dessous (% en poids) :

30 composé de l'exemple 1	0,1%
octyl palmitate	10%
glyceryl isostéarate	4%
huile de vaseline	24%
vitamine E	1%
35 glycérine	3%

eau

qsp 100%

Exemple 7

- 5 On prépare la composition cosmétique suivante en utilisant les constituants ci-dessous (% en poids) :

	composé de l'exemple 2	0,05%
	huile de jojoba	13%
10	sorbate de potassium	0,3%
	cyclopentadimethylsiloxane	10%
	alcool stéarylique	1%
	acide stéarique	4%
	stéarate de polyéthylène glycol	3%
15	vitamine E	1%
	glycérine	3%
	conservateurs	qs
	eau	qsp 100%

20 **Exemple 8**

On prépare une composition pharmaceutique sous forme de suspension buvable comprenant les constituants suivants :

25	composé de l'exemple 1	0,10 g
	éthanol à 90%	1,00 g
	sorbitol à 70%	0,50 g
	saccharinate de sodium	0,01 g
	p-hydroxybenzoate de méthyle	0,04 g
30	arôme	qs
	eau	qsp 5 ml

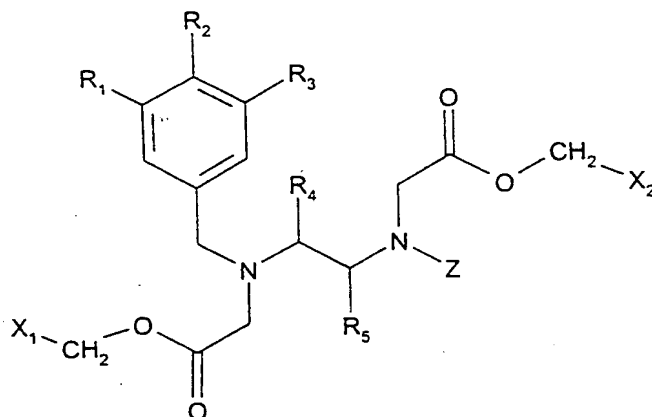
Exemple 9

- 35 On prépare une composition pharmaceutique sous forme de comprimé, comprenant les constituants suivants :

	composé de l'exemple 1	0,10 g
	amidon	0,12 g
40	phosphate bicalcique	0,20 g
	lactose	0,06 g
	stéarate de magnésium	0,02 g

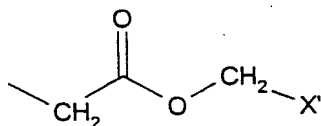
REVENDICATIONS

1. Composé de formule (I) :

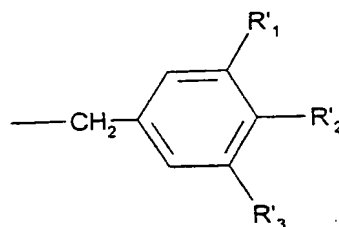


dans laquelle:

- R_1 , R_2 et R_3 sont, indépendamment les uns des autres, choisis parmi H, OH ou un radical alcoxy, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8
- R_4 et R_5 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R_4 et R_5 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons
- X_1 et X_2 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi :
 - un groupement $-(CO)NR_6R_7$ dans lequel R_6 et R_7 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R_6 et R_7 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons, ou
 - un groupement $-O(CO)R_8$ dans laquelle R_8 est choisi parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8
- Z est choisi parmi un groupement de formule A ou un groupement de formule B



(II)



(III)

dans lesquels :

- R'_1 , R'_2 et R'_3 sont, indépendamment les uns des autres, choisis parmi H, OH ou un radical alcoxy, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8

- X' est soit un groupement $-(CO)NR'_4R'_5$ dans lequel R'_4 et R'_5 sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_4 ; R'_4 et R'_5 pris ensemble pouvant former un cycle à 5 ou 6 chaînons; soit un groupement $-O(CO)R'_6$ dans laquelle R'_6 est choisi parmi H ou un radical alkyle, linéaire ou ramifié, en C_1 - C_8

ainsi que leurs sels organiques ou minéraux.

2. Composé selon la revendication 1, dans lequel les radicaux alcoxy sont choisis, indépendamment les uns des autres, parmi les radicaux méthoxy, éthoxy, n-propyloxy, isopropyloxy, n-butyloxy, sec-butyloxy ou tert-butyloxy; et/ou les radicaux alkyles sont choisis, indépendamment les uns des autres, parmi les radicaux méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, sec-butyle ou tert-butyle.

3. Composé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les sels minéraux ou organiques sont choisis parmi les sulfates, les chlorhydrates, les nitrates, les phosphates, les bromates, les fumarates, les mésylates et les tosylates.

4. Composé selon l'une des revendications précédentes, choisi parmi :
- le bis acétoxyméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]éthylènediamine-N,N'-diacétate,
 - le bis pivaloyloxyméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]éthylènediamine-N,N'-diacétate, et
 - le bis N,N-diéthylaminocarbonylméthyl-[N,N'-bis(3,4,5-triméthoxybenzyl)]-éthylènediamine-N,N'-diacétate,
- ainsi que leurs sels, notamment leurs chlorhydrates.

5. Procédé de préparation des composés selon l'une des revendications 1 à 4, dans lequel on fait réagir un sel, par exemple un sel de sodium ou un chlorhydrate, d'un dérivé d'acide N,N'-dibenzyl alkylènediamine N,N'-diacétique ou d'acide N-benzyl alkylènediamine N,N',N'-triacétique, avec 2 à 4 équivalents d'un dérivé halogénométhyle substitué.

6. Composition cosmétique ou pharmaceutique, caractérisée par le fait qu'elle contient dans un véhicule cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

7. Composition selon la revendication 6, dans laquelle le composé de formule (I) est présent en une quantité de 0,001 à 10 % en poids par rapport au poids total de la composition, de préférence 0,01 à 8% en poids.

8. Composition selon l'une des revendications 6 à 7, dans laquelle le composé de formule (I) est associé à au moins une autre substance active, notamment une substance anti-radicaux libres.
- 5 9. Composition selon la revendication 8, dans laquelle l'autre substance active est choisie parmi les antilipoperoxydants, les réducteurs biologiques, les désactivateurs d'oxygène singulet (quenchers), les systèmes capables de décomposer le peroxyde d'hydrogène, les systèmes de protection contre l'anion superoxyde, les
- 10 systèmes capables de décomposer les hydroperoxydes organiques, les chelateurs du fer, les anti-inflammatoires, les filtres UV et les promoteurs de pénétration.
- 15 10. Composition selon l'une des revendications 6 à 9, se présentant sous forme d'onguent, de crème, de pommade, de gel, de spray, de lotion, d'émulsion ou de dispersion vésiculaire.
11. Utilisation d'au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, en tant qu'agent antioxydant.
- 20 12. Utilisation d'au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans une composition cosmétique, pour traiter le stress oxydant et/ou pour traiter les effets de l'exposition au soleil et/ou pour prévenir le vieillissement notamment de la peau ou des cheveux.
- 25 13. Utilisation d'au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour la préparation d'une composition pharmaceutique
- destinée à traiter le stress oxydant notamment lié à certains états pathologiques, et/ou
 - destinée à traiter des situations pathologiques telles que les cancers, les états
 - 30 inflammatoires, l'ischémie reperfusion, les surcharges en fer, les maladies dégénératives du système nerveux, et/ou
 - destinée à traiter les effets de l'exposition aux rayonnements ionisants ou solaires, et/ou
 - destinée à traiter les effets de l'utilisation de certains médicaments générateurs
 - 35 de radicaux libres, et/ou
 - destinée à prévenir le vieillissement notamment de la peau ou des cheveux.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/01877

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07C229/16 C07C235/06 A61K31/195 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07C A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95 16663 A (CIBA GEIGY AG ; GASPARINI FABRIZIO (CH); LEUTERT THOMAS (CH); FARLE) 22 June 1995 see examples 1-5	1-3, 5-13
A	WO 94 11338 A (OREAL ; GALEY JEAN BAPTISTE (FR); DUMATS JACQUELINE (FR)) 26 May 1994 cited in the application see claims	1-13
A	GALEY, JEAN-BAPTISTE ET AL: "N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl) ethylenediamine N,N'-diacetic acid as a new iron chelator with potential medicinal applications against oxidative stress" BIOCHEM. PHARMACOL. (1996), 51(2), 103-15 CODEN: BCPCA6; ISSN: 0006-2952, 1996, XP002064715	1-13

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 November 1998

Date of mailing of the international search report

20/11/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sánchez García, J.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No
PCT/FR 98/01877

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 755 917 A (OREAL) 29 January 1997 see examples ---	1-13
A	US 4 528 196 A (PITT COLIN G) 9 July 1985 see the whole document ---	1-13
A	EP 0 700 896 A (OREAL) 13 March 1996 see examples -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter .nal Application No

PCT/FR 98/01877

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9516663 A	22-06-1995	AU 1033495 A	03-07-1995
		CA 2179203 A	22-06-1995
		CN 1137267 A	04-12-1996
		EP 0734374 A	02-10-1996
		FI 962435 A	12-06-1996
		HU 74457 A	30-12-1996
		JP 9507473 T	29-07-1997
		NO 962307 A	04-06-1996
WO 9411338 A	26-05-1994	FR 2698095 A	20-05-1994
		FR 2706889 A	30-12-1994
		EP 0668854 A	30-08-1995
		JP 8506090 T	02-07-1996
		US 5703095 A	30-12-1997
		US 5629436 A	13-05-1997
EP 0755917 A	29-01-1997	FR 2737204 A	31-01-1997
		AT 164830 T	15-04-1998
		CA 2182112 A	27-01-1997
		DE 69600225 D	14-05-1998
		DE 69600225 T	24-09-1998
		ES 2114341 T	16-05-1998
		JP 9132556 A	20-05-1997
US 4528196 A	09-07-1985	NONE	
EP 0700896 A	13-03-1996	FR 2724317 A	15-03-1996
		AT 144978 T	15-11-1996
		AU 675902 B	20-02-1997
		AU 2837795 A	04-04-1996
		CA 2157750 A	09-03-1996
		DE 69500082 D	12-12-1996
		DE 69500082 T	06-03-1997
		ES 2096504 T	01-03-1997
		JP 2776770 B	16-07-1998
		JP 8092081 A	09-04-1996
		US 5709848 A	20-01-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem . Internationale No
PCT/FR 98/01877

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 6 C07C229/16 C07C235/06 A61K31/195 A61K7/48		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 C07C A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 95 16663 A (CIBA GEIGY AG ; GASPARINI FABRIZIO (CH); LEUTERT THOMAS (CH); FARLE) 22 juin 1995 voir exemples 1-5	1-3,5-13
A	WO 94 11338 A (OREAL ; GALEY JEAN BAPTISTE (FR); DUMATS JACQUELINE (FR)) 26 mai 1994 cité dans la demande voir revendications	1-13
A	GALEY, JEAN-BAPTISTE ET AL: "N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzyl) ethylenediamine N,N'-diacetic acid as a new iron chelator with potential medicinal applications against oxidative stress" BIOCHEM. PHARMACOL. (1996), 51(2), 103-15 CODEN: BCPCA6; ISSN: 0006-2952, 1996, XP002064715	1-13
-/--		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international, ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center; font-weight: bold;">12 novembre 1998</div>		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center; font-weight: bold;">20/11/1998</div>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Sánchez García, J.M.</div>

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No

PCT/FR 98/01877

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cites. avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 755 917 A (OREAL) 29 janvier 1997 voir exemples ---	1-13
A	US 4 528 196 A (PITT COLIN G) 9 juillet 1985 voir le document en entier ---	1-13
A	EP 0 700 896 A (OREAL) 13 mars 1996 voir exemples -----	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem : Internationale No

PCT/FR 98/01877

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9516663 A		22-06-1995	AU 1033495 A	03-07-1995
			CA 2179203 A	22-06-1995
			CN 1137267 A	04-12-1996
			EP 0734374 A	02-10-1996
			FI 962435 A	12-06-1996
			HU 74457 A	30-12-1996
			JP 9507473 T	29-07-1997
			NO 962307 A	04-06-1996
WO 9411338 A		26-05-1994	FR 2698095 A	20-05-1994
			FR 2706889 A	30-12-1994
			EP 0668854 A	30-08-1995
			JP 8506090 T	02-07-1996
			US 5703095 A	30-12-1997
			US 5629436 A	13-05-1997
EP 0755917 A		29-01-1997	FR 2737204 A	31-01-1997
			AT 164830 T	15-04-1998
			CA 2182112 A	27-01-1997
			DE 69600225 D	14-05-1998
			DE 69600225 T	24-09-1998
			ES 2114341 T	16-05-1998
			JP 9132556 A	20-05-1997
US 4528196 A		09-07-1985	AUCUN	
EP 0700896 A		13-03-1996	FR 2724317 A	15-03-1996
			AT 144978 T	15-11-1996
			AU 675902 B	20-02-1997
			AU 2837795 A	04-04-1996
			CA 2157750 A	09-03-1996
			DE 69500082 D	12-12-1996
			DE 69500082 T	06-03-1997
			ES 2096504 T	01-03-1997
			JP 2776770 B	16-07-1998
			JP 8092081 A	09-04-1996
			US 5709848 A	20-01-1998

THIS PAGE BLANK (USPTO)